



Title	色素性乾皮症A群原因遺伝子のホモロークの検索
Author(s)	島本, 卓也
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37181">https://hdl.handle.net/11094/37181</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

## 【24】

氏名・(本籍)	しま 島	もと 本	たく 卓	や 也
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	9675	号	
学位授与の日付	平成3年3月26日			
学位授与の要件	医学研究科 病理系専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	色素性乾皮症A群原因遺伝子のホモローグの検索			
論文審査委員	(主査) 教授 藤尾 啓			
	(副査) 教授 谷口 維紹	教授 岡田 善雄		

## 論文内容の要旨

## (目的)

色素性乾皮症 (Xeroderma pigmentosum) は、日光照射により多様な皮膚症状を呈する常染色体劣性遺伝の疾患であり、病因としてはUV照射によりDNAに生じたピリミジン・ダイマーを除去修復する機構の欠損が考えられている。XPには、A-H群の遺伝的相補性群と variant type の合計9群があり、中でもA群は最も臨床症状が重篤で、神経症状も伴うことが知られている。

最近、田中らにより色素性乾皮症A群の細胞を特異的に相補する遺伝子 (Xeroderma pigmentosum Group A Complementing gene ; XPAC) が、マウス、ヒトで相次いでクローニングされ、その構造が明らかにされた。XPAC遺伝子産物はマウスで272アミノ酸、ヒトで273アミノ酸から成り、特徴的な構造として glutamic acid の cluster 及び zinc-finger motif を有するが、nucleotide binding domain, helicase motif 等は存在せず、その機能に関しては全く不明である。

今回、我々は、XPAC遺伝子がほ乳類以外でも存在するかどうか、存在するとすれば保存されている領域がどこであるのかを解明し機能上重要な部位を推定するため、他の生物種のXPAC遺伝子ホモローグの検索を行なった。

## (方法と結果)

マウス及びヒトXPAC cDNAをプローブとし Southern blot を行なったところ、chicken 及び *Xenopus laevis* において両方のプローブと反応するバンドが認められたが、*Drosophila melanogaster* 以下の下等真核生物ではこのようなバンドは検出することができなかった。そこで、Chicken embryo 及び *X. laevis* 肝臓より cDNA library を作成し、マウス、ヒトXPAC cDNAプローブでスクリー

ニングを行い、両方のプローブで陽性になるクローンを各々得た。シーケンスの結果、これらは、chicken 及び *X. laevis* におけるXPAC遺伝子のホモログ (XPACCH, XPACXE) であることが明らかになった。XPACCH cDNAは267アミノ酸, XPACXE cDNAは270アミノ酸をコードしており、ヒト, マウスXPAC遺伝子とのアミノ酸レベルでの homology は約90%, identity は67%で、脊椎動物の間では極めてよく保存されていることが明らかとなった。

次に、無脊椎動物でのホモログを検索するため、*D. melanogaster* 由来のKC細胞よりcDNAを合成し、脊椎動物の間で homology の高い領域から degenerate primer を作製して、polymerase chain reaction (PCR) を行なった。複数の primer の組合せにおいて、予測される大きさのDNA断片が得られ、シーケンスの結果、ホモログであることが判明した (XPACDR)。次に、このDNA断片をプローブとし、cDNA library をスクリーニングして全長を含むクローンを得た。XPACDR cDNAは294アミノ酸をコードしており、ヒト, マウスXPAC遺伝子とのアミノ酸レベルでの homology は約65%, identity は45%であった。zinc-finger motif 形成に参与する cysteine 残基は、いずれも保存されていた。しかし、脊椎動物で認められた、glutamic acid のcluster はXPACDR遺伝子産物には存在しなかった。また、zinc-finger motif よりN末端の領域では、核移行シグナルと推定される部位が保存されている程度で、homology はほとんどなく、アミノ酸の数にも変異が大きかった。一方、zinc-finger motif よりC末の領域では homology が70%, identity が55%と高く、アミノ酸の数も脊椎動物で169残基、*D. melanogaster* で170残基と極めてよく保存されていた。このことから、機能上重要な部位はC末の領域であることが強く示唆された。

以上の結果を踏まえて、最も単純な真核細胞である酵母についてホモログの検索を試みてきた。*Saccharomyces cerevisiae*, *Shizosaccharomyces pombe* の genomic DNA, cDNA を template に用い、*D. melanogaster* のレベルまで保存されているアミノ酸配列をもとに degenerate primer を約20種類ほど作製し、PCRを行ってきた。現在のところ、XPACホモログと思われるDNA断片は得られておらず、酵母のホモログは存在したとしてもかなり homology の低いことが予想される。

(総括)

Chicken, *X. laevis*, *D. melanogaster* において、XPAC遺伝子のホモログをクローニングし、そのシーケンスを決定した。この結果、zinc-finger motif の cysteine 残基および zinc-finger motif よりC末のアミノ酸配列が、ほ乳類から *D. melanogaster* のレベルまで、よく保存されていることが明らかになった。

## 論文審査の結果の要旨

色素系乾皮症A群は、DNA修復機構の欠陥により引き起こされる疾患の中で、初めて原因遺伝子の同定された疾患であり、その病態の詳細の解析が待たれているが、同定された原因遺伝子の機能は未だ解明されていない。本研究は系統進化的にアプローチすることにより、この問題に対して重要な知見

見を得たものである。まず第一に、この遺伝子は哺乳類だけでなく、鳥類、両生類、無脊椎動物にも存在し、発現していることを明らかにした。これにより、この遺伝子産物の機能の、生物種を越えた普遍性が強く示唆された。第二に、これら生物種の間でアミノ酸配列を比較することにより、保存されている領域を明らかにし機能上重要な部位を推定した。

以上の知見は、今後の機能解析への道を拓く上で極めて重要であり、大変意義深い研究であると考えられる。

よって、本論文は医学博士の学位を授与する価値があると認められる。